CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL GRANO DE COPOAZÚ (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng)

ZULMA ROCÍO CASTRO ROBAYO

Ingeniera Agrónoma

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

ESPECIALIZACION EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

PROGRAMA INTERFACULTADES

BOGOTA D.C.

2010

CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL GRANO DE COPOAZÚ (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng)

ZULMA ROCIO CASTRO ROBAYO
Código: 107392

Trabajo de grado presentado para optar al título de Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos

DIRIGIDO POR:

ANIBAL ORLANDO HERRERA AREVALO
Ingeniero de Alimentos PhD.

CODIRIGIDO POR:

MARIA SOLEDAD HERNANDEZ GOMEZ
Bióloga PhD.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
ESPECIALIZACION EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA INTERFACULTADES
BOGOTA, D.C.
2010



A mi hija Nara Sofía por iluminar mis días grises con su alegría tecnicolor

A mi mami, mi papa y mi abuelita por su abnegado e incondicional apoyo

La ciencia se compone de errores, que a su vez, son los pasos hacia la verdad.

Jules Gabriel Verne.

TABLA DE CONTENIDO

Pag.

1. INTRODUCCIÓN 13

2. OBJETIVOS 16

2.1. OBJETIVO GENERAL 16

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 16

3. MATERIALES Y MÉTODOS 17

3.1. LOCALIZACIÓN 17

3.2. MATERIAL BIOLÓGICO 17

3.3. METODOLOGÍA 17

3.4. TIPOS DE FERMENTACIÓN 19

3.5. PROCEDIMIENTOS REALIZADOS A LAS TRES FERMENTACIONES 20

3.5.1. Adecuación de las semillas 20

3.5.2. Caracterización física de la semilla 20

3.5.3. Caracterización físico-química y microbiológica en el proceso de fermentación de copoazú 21

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 24

4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LAS SEMILLAS 24

4.2. CARACTERIZACIÓN DE LA PULPA 24

4.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE COPOAZÚ 25

4.3.1. Temperatura 25

4.3.2. pH 27

4.3.3. % de acidez 28

4.3.4. Azucares 30

4.3.5. Grasas 34

4.4. CAMBIOS EN LA PIGMENTACIÓN DE LAS SEMILLAS. 34

4.5. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA 39

4.5.1. Levaduras 39

4.5.2. Lactobacilus 40

4.5.3. Mohos 41

4.6. ÍNDICE DE FERMENTACIÓN 42

5. CONCLUSIONES 44

6. RECOMENDACIONES 45

7. BIBLIOGRAFÍA 46

LISTA DE TABLAS

Pag.

Tabla 1. Tipos de fermentaciones estudiadas 20

Tabla 2. Variables físico-químicas medidas en el proceso de fermentación copoazú. 22

Tabla 3. Caracterización física de la semilla de copoazú antes de fermentar 24

Tabla 4. Caracterización química de la pulpa de los frutos de copoazú estudiados 25

Tabla 5. Comparación de la temperatura de las 3 masas fermentantes de copoazú durante el tiempo del proceso. 26

Tabla 6. Comparación del pH de los cotiledones de las 3 masas fermentantes de copoazú durante el tiempo del proceso. 28

Tabla 7. Comparación del % acidez de los cotiledones de copoazú durante el proceso de fermentación en los tres tratamientos. 30

Tabla 8. Comparación del porcentaje de azúcares reductores, porcentaje de azucares totales e índice de azucar de los cotiledones de la masa fermentante de copoazú en el tratamiento FC1 durante el tiempo del proceso. 30

Tabla 9. Comparación del porcentaje de azúcares reductores, porcentaje de azucares totales e índice de azúcar de los cotiledones de la masa fermentante de copoazú en el tratamiento FC2 durante el tiempo del proceso. 31

Tabla 10. Comparación del porcentaje de azúcares reductores, porcentaje de azucares totales e índice de azúcar de los cotiledones de la masa fermentante de copoazú en el tratamiento FC3 durante el tiempo del proceso 32

Tabla 11. % de grasa contenido en las semillas de copoazú de los tres tratamientos, antes y después de la fermentación 34

Tabla 12. Comparación de la presencia de levaduras en la masa fermentante de las semillas de copoazú durante el proceso de fermentación en los tres tratamientos evaluados. 40

Tabla 13. Comparación de la presencia de lactobacilus en la masa fermentante de las semillas de copoazú durante el proceso de fermentación 41

Tabla 14. Presencia de mohos en la masa de semillas del tratamiento FC1durante el proceso de fermentación 42

Tabla 15. Porcentaje de fermentación de los granos de copoazú estudiados 43

LISTA DE FIGURAS

Pag.

Figura 1. Método de fermentación utilizado para el estudio 18

Figura 2. Cambios en la pigmentación de las semillas de copoazú en el tratamiento FC1 durante el proceso de fermentación 36

Figura 3. Cambios en la pigmentación de las semillas de copoazú en el tratamiento FC2 durante el proceso de fermentación 37

Figura 4. Cambios en la pigmentación de las semillas de copoazú en el tratamiento FC3 durante el proceso de fermentación 38

LISTA DE GRAFICAS

Pág.

Gráfica 1. .Variación de la temperatura de las semillas de copoazú durante el tiempo de fermentación 27

Gráfica 2.Variación pH de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación 28

Gráfica 3. .Variación del % acidez de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación 29

Gráfica 4. Variación del porcentaje de azucares reductores de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación en los tres tratamientos evaluados 32

Gráfica 5. Variación del porcentaje de azucares totales de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación en los tres tratamientos evaluados 33

Gráfica 6.Variación del índice de azúcar de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación en los tres tratamientos evaluados 33

Grafica 7. Comparación del índice de fermentación entre los tres tratamientos 43

CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL GRANO DE COPOAZÚ (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng)

RESUMEN

El copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng) es una planta amazónica cuya la semilla se utiliza para obtener *cupulate*. La fermentación se convierte en el principal proceso de beneficio para la semilla, ya que contribuye a generar los precursores del aroma y sabor típicos del grano de la misma forma que sucede con el cacao. El presente trabajo tuvo como objetivo la caracterización de tres tipos de fermentación de semillas de copoazú: En el primero (FC1) se remociones a las 48, 96 y 120 horas después de iniciada la fermentación. En el segundo las (FC2) las remociones fueron cada 24 horas, igual que en el tercero (FC3) en el que se adicionó una solución de azúcar al inicio del proceso. En cada tipo de fermentación se llevó un registro fotográfico del cambio de pigmentación de los cotiledones, además se midió diariamente: temperatura, pH, % de acidez, azucares totales y reductores, presencia de levaduras y lactobacilus. Al final del proceso se evaluó el índice de fermentación (IF). El procedimiento FC3 presentó en los parámetros evaluados valores que sugieren el mejor proceso de fermentación entre los tres tratamientos sobresaliendo en el IF con un valor del 83,2%, resultado que se puede relacionar con el hecho de alcanzar una temperatura apropiada para estimular la presencia de microorganismos que generaron sustancias y reacciones favorables al proceso, además la temperatura máxima alcanzada de 46°C indujo la muerte del embrión. Por su parte el procedimiento FC1 presentó un valor de IF

(39,8%) en el que se afectó la calidad por la presencia de granos mohosos y germinados debido a que la temperatura máxima alcanzada fue de 33 °C. Los resultados sugieren que la adición de azúcar al inicio del proceso y la remoción cada 24 horas mejora el proceso de fermentación.

Palabras clave: Índice de fermentación, remoción, azúcar, temperatura, copoazú.

CHARACTERIZATION OF FERMENTATION PROCESS OF COPOAZÚ (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng) SEEDS

ABSTRACT

The copoazú (Theobroma grandiflorum Willd. Ex Spreng) is an Amazonian plant from which the seed is used for *cupulate*. The fermentation process becames the main benefit process for the seed because it generates precursors of aroma and flavor typical of the quality grain. For this, the present study had like aim the characterize of three types of fermentation: the first (FC1) with removals at 48, 96 and 120 hours after starting the fermentation. The second (FC2) with removals every 24 hours and the third (FC3) with removals every 24 hours and with addition of a sugar solution at the beginning of the process. Each fermentation carried a photographic record of the change in pigmentation of the cotyledons, also it measured daily: temperature, pH, % acidity, total and reducing sugars, presence of yeasts and lactobacilus. At the end of the process was evaluated the fermentation index (IF). FC3 got the best values in all parameters excelling the IF with a value of 83.2%, it was because it got the optimum temperature for the death of the embryo (46 °C) that creates conducive conditions for the presence of microorganisms which generate substances and positive reactions to the process. FC1 got a bad IF (39.8%) in which the quality was affected by the presence of moldy grains and sprouted because the maxima temperature achieved was 33 ° C. These results allow to recommend that for a good fermentation, it can add sugar at the beginning of the process and remove the seeds every 24 hours.

Keywords: Fermentation index, removal, sugar, temperature, copoazú

1. INTRODUCCIÓN

El copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng) es una planta de origen amazónico en la cual se utiliza la pulpa y semilla para uso comestible y la cascara o tegumento como acondicionador de suelos. La pulpa es la parte más usada, con la cual se puede obtener refrescos, sorbetes, néctares, dulces, jaleas, yogurt, licores, jarabes, galletas y bombones, entre otros (SPTB, 1999). Esta planta perteneciente al género Theobroma tiene la característica que la semilla se puede industrializar para obtener *cupulate*, un alimento con características físicas, químicas y organolépticas similares al chocolate que se deriva del cacao (*Theobroma caca*o), es por esto que el copoazú ha sido llamado cacao amazónico (SPTB, 1999).

Algunos beneficios del *cupulate* se relacionan con el aporte de ácidos grasos insaturados y antioxidantes. En el aspecto social la transformación de la almendra (residuo de la obtención de pulpa) en confites o manteca de *cupulate*, genera un valor agregado y por tanto mayores utilidades a los fabricantes que generalmente son a pequeña escala y manejado por pobladores de la región amazónica. También incentiva el cultivo del copoazú, contribuyendo al manejo agroforestal y reduciendo impactos de tipo agrícola en la región amazónica (EMBRAPA, 1990).

En la elaboración de chocolate y de *cupulate* participan los mismos parámetros, variables y puntos críticos, debido a la semejanza botánica y de composición entre el cacao y el copoazú .Los procesos en la producción de la pasta de *cupulate y pasta de*

cacao son similares: fermentación, secado, tostado, molienda de los granos y molturación (Nazaré *et al*, 1990 – FEDECACAO, 2004).

Para los granos de cacao y copoazú la fermentación se convierte en el principal proceso de beneficio, ya que los cambios ocurridos son fundamentales para que se presenten los agentes precursores del aroma y sabores típicos del cacao de calidad. Este proceso tiene por objetivo los siguientes aspectos (FEDECACAO, 2004):

- Desprender los granos del mucílago que los rodea para facilitar su conservación.
- Provocar la muerte del embrión e impedir la germinación.
- Originar la cadena de reacciones bioquímicas en el interior de los granos que generan un aumento de su volumen y el cambio de color hasta alcanzar el tono chocolate característico del grano de cacao.
- Oxidar o transformar el sabor astringente de los cotiledones.
- Desarrollar el sabor y aroma del chocolate.

En Colombia, la fermentación del cacao ha sido estudiada por largo tiempo, llegando a conclusiones concretas de las condiciones propicias para una optima fermentación. En el caso de la fermentación del copoazú, en los últimos años, los centros de investigación amazónicos, junto con universidades han adelanto investigaciones relacionadas con este proceso, sobresaliendo el trabajo de grado realizado por Hernández y León en el 2003, donde se evaluó las etapas de fermentación y secado del proceso de beneficio de semillas de copoazú (*Theobroma grandiflorum* Wild Ex

Spreng Schum) a nivel de laboratorio simulando condiciones de la región amazónica. Este trabajo describió tiempos, números de volteos, caracterizaciones físicas y químicas del grano en la fermentación. Esta investigación es pionera en generar conocimiento sobre el proceso de beneficio del copoazú y por lo tanto un aporte valioso para la industrialización del grano del cacao amazónico.

Siguiendo la línea de estudio acerca del beneficio del copoazú, se realizó la presente investigación sobre adecuación y métodos de fermentación para que permitan obtener un adecuado proceso, donde la calidad del grano fermentado sea excelente y por lo tanto sus productos industrializados también.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar tres tipos de fermentaciones del grano de copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng), utilizando los criterios de fermentación que se utilizan para cacao.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Hacer una caracterización físico-química y microbiológica del proceso de fermentación de las semillas de copoazú (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng).

Comparar el efecto de tres tipos de fermentación sobre las características físicas y físico-químicas de las semillas de copoazú.

Determinar el grado de fermentación de los granos adaptando los resultados a la Norma Técnica Colombiana NTC 1252.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La investigación se llevo a cabo en la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. El proceso de fermentación se realizó en el laboratorio de poscosecha de la facultad de Agronomía y las pruebas químicas se hicieron en el laboratorio de análisis físico-químico de alimentos del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA).

3.2. MATERIAL BIOLÓGICO

El Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas (SINCHI) ubicado en Florencia Caquetá, proporcionó las semillas de copoazú estudiadas en el presente trabajo.

3.3. METODOLOGÍA

El proceso de fermentación se realizó de forma controlada, con temperatura de 29 °C y humedad relativa del 80%, simulando las condiciones ambientales de la ciudad de Florencia, departamento de Caquetá, donde inicialmente se desarrollaría este trabajo.
Estas condiciones se lograron utilizando una cámara de incubación microbiológica con control de temperatura y por medio de recipientes con agua dentro de la cámara y utilizando un higrómetro se controló la humedad relativa.

Los factores climáticos afectaron la cosecha de los frutos de copoazú, por lo que las muestras llegaron en poca cantidad y de forma escalonada.

El método de fermentación utilizado (figura 1) fue la combinación del método de sacos y el de canastas (Moreno & Sánchez, 1980), donde el saco abierto se coloca dentro de la canasta; esto se hizo para garantizar que cantidades pequeñas de semillas alcanzaran la temperatura adecuada para una óptima fermentación y que contara con buena aireación (Enríquez, 1985).

Las canastas fueron hechas en mimbre y con dimensiones de 0,35 m de diámetro y 0,3 m de altura; los sacos fueron tejidos en fique; ambos utensilios provistos de orificios en la parte inferior para la salida de los lixiviados de las semillas en fermentación durante el proceso.

Para efectuar las remociones se trasladaron las semillas en fermentación de una canasta a otra canasta (Peñaranda, & Bolaños, 1990).



Figura 1. Método de fermentación utilizado para el estudio

3.4. TIPOS DE FERMENTACIÓN

Con base en metodologías utilizadas en Brasil y Colombia, se determinó trabajar con adaptaciones de tres tipos diferentes de fermentación (tabla1), las cuales difieren en la cantidad de semillas, frecuencia de remoción y adición de sustancias externas.

Fermentación 1 – FC1 (adaptación Marçal de Vasconselos, 1999)

En esta fermentación se removió 3 veces: la primera a las 48 horas, la segunda a las 96 horas y la última a las 120 horas después de iniciado el proceso.

Fermentación 2 _ FC2 (adaptación Hernández & León, 2003)

Siguiendo las recomendaciones presentadas por Hernández & León, se hicieron remociones cada 24 horas, para un total de 5 remociones.

Fermentación 3 FC3 (adaptación Nazaré *et al*, 1990)

Al inicio de la fermentación se le adicionó una solución de azúcar al 30%, temperatura aproximada de 38°C, en la proporción de 1% en relación al peso de las semillas (tabla 1). La masa de semillas se removió cada 24 horas.

Tipos de fermentaciones	Cantidad (Kg)	No. de remociones	Duración fermentación (días)	Cantidad de solución de azúcar (Kg)
Fermentación 1 (FC1)	2,76	3	6	0
Fermentación 2 (FC2)	2,59	5	6	0
Fermentación3 (FC3)	6,44	5	6	0,1288

Tabla 1. Tipos de fermentaciones estudiadas

3.5. PROCEDIMIENTOS REALIZADOS A LAS TRES FERMENTACIONES

3.5.1. Adecuación de las semillas. Se retiró el exceso de pulpa manualmente con tijeras desinfectadas en una solución de hipoclorito de sodio al 5%.

Es importante retirar la pulpa ya que si la fermentación se realiza con las semillas sin despulpar, el grano después del proceso no tendría la calidad para ser industrializado debido a que no se podría degradar toda la pulpa y además el pH de la masa fermentante seria más bajo e interferiría en la presencia de bacterias lácticas y de las reacciones propias de la fermentación (Nazaré *et al*, 1990).

3.5.2. Caracterización física de la semilla. Después de despulpar los frutos, se tomaron al azar 100 semillas de copoazú, se midió la altura, el grosor y el peso de cada uno de estos con el fin de llevar un registro de las características de la semilla.

3.5.3. Caracterización físico-química y microbiológica del proceso de fermentación de copoazú. En el transcurso de la fermentación se presentan cambios físico-químicos en la semilla, los cuales contribuyen a determinar calidad final del grano. Para determinar el comportamiento de los cambios, durante el proceso se midieron las variables que se indican en la tabla 2, estas mediciones se realizaron cada 24 horas durante todo el proceso:

- Temperatura y presencia de levaduras y lactobacilus de las semillas en fermentación.

- pH, acidez y grados brix iniciales de la pulpa.

- pH, acidez, azucares totales, azucares reductores, índice de azúcar y grasas de los cotiledones durante el proceso.

La temperatura se midió cada 24 horas tomando las lecturas en la superficie, medio y fondo de la cesta, donde el valor final fue el promedio de las tres.

El índice de azúcar se calculó así: $\%\ Indice\ de\ az\acute{u}car = \frac{\%\ azucares\ reductores}{\%\ azucares\ totales}$

Análisis	Método	Equipo
Temperatura	Marçal de Vasconselos, (1999)	Termómetro de mercurio
pH	AOAC 970.21 (1997)	pHmetro
Acidez	AOAC 942, 15 (1997)	-
Grasas	Extracto soxhelt. AOAC 31,4,02 (1997)	Extractor de grasa
Azucares reductores	Gravimétrico (Munson & Walker)	Sistema de filtración al vacío
Azucares totales	Gravimétrico (Munson & Walker)	Sistema de filtración al vacío
Recuento de mohos y levaduras	Recuento en placa INVIMA No. 7	-
Recuento de lactobacilus	Recuento en placa INVIMA No. 2	-

Tabla 2. Variables físico-químicas medidas en el proceso de fermentación copoazú.

Al final del proceso se evaluó el grado de fermentación adaptando la NTC 1252 donde se tomaron 50 almendras de copoazú y se partieron longitudinalmente clasificándolos uno a uno como:

Bien fermentados: Granos de copoazú cuyo proceso de fermentación ha sido completo y que presentan las siguientes características: cascara o tegumento de color marrón, que se desprende fácilmente de la almendra. Las almendras tienen color marrón con alveolos bien definidos de forma arriñonada y con olor a chocolate.

Insuficientemente fermentados: granos de copoazú, con una fermentación incompleta, cuyos cotiledones (almendra) presentan un color beige o blanco, de estructura semicompacta, con cáscara difícilmente separable.

Granos pizarrosos: granos de copoazú sin fermentar, los cuales presentan un color interior beige claro, gris y estructura completamente compacta.

Otros: mohosos, pasilla, germinados y dañados por insectos.

Los resultados se expresan en proporciones relativas (porcentaje) y se expresan como índice de fermentación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE LAS SEMILLAS

Al inicio del experimento las semillas de los tres tratamientos no presentaron diferencias significativas en cuanto a las características físicas. En las mediciones (tabla 3) se observa que las semillas utilizadas en la investigación tienen en promedio longitud de 3 cm, diámetro de 1,23 cm y peso 6,67 g. Los datos de longitud y diámetro son similares a los reportados por Venturieri (1993) y Rocha Neto *et al* (1999).

Semillas utilizadas	Largo (cm)	Diámetro (cm)	Peso (g)
FC1	3,03	1,3	7,03
FC2	2,53	0,87	6,15
FC3	2,87	1,14	6,76
Media	2,81	1,1	6,67

Tabla 3. Caracterización física de la semilla de copoazú antes de fermentar

4.2. CARACTERIZACIÓN DE LA PULPA

Los datos obtenidos al evaluar las características iniciales de la pulpa y registrados en la tabla 4 coinciden con los rangos de valores de pH: 2.9-3,67, % acidez: 1,53 -2.77 y grados brix: 10,6-16,11, reportados en la literatura. (Calzavara.*et al*, 1984; Souza, 1993; Nazaré *et al*, 1997; Marçal de Vasconselos, 1999 ; Hernández & León, 2003), lo cual indica que las condiciones iniciales, con respecto a la pulpa de las semillas, fueron similares.

Pulpa de las semillas	pH	Acidez (% acido cítrico)	°Bx
FC1	3,28	2,06	10,2
FC2	3,44	2,01	10,6
FC3	3,57	1,69	11,1
Media	3,43	1,92	10,63

Tabla 4. Caracterización química de la pulpa de los frutos de copoazú estudiados.

4.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE COPOAZÚ

4.3.1. Temperatura. Después de 24 horas de iniciada la fermentación se observa en la tabla 5 que en los tres tratamientos hubo un incremento de la temperatura, este calor es producido por la respiración de las semillas que en esta fase se encuentran vivas (Enríquez, 1985), se le conoce como calor de respiración y es proporcional a la masa y a la cantidad de azúcares oxidados. Durante el periodo de tiempo evaluado, el tratamiento FC3, en el que se adicionó la solución de azúcar, generó un mayor aumento en la temperatura comparada con FC1 y FC2 donde el incremento fue menor.

En el día 2, el tratamiento FC1 aumento la temperatura levemente en 3 °C, mientras que se presentó un mayor incremento en FC2 con 5 °C y FC3 con 7°C, respecto a los valores del día anterior (tabla 5). Esto se explica por el hecho que las semillas de FC2 y FC3 habían tenido un volteo el día anterior y así se generó aireación para el crecimiento de microorganismos logrando que estos se distribuyeran uniformemente en la masa de semillas.

En el tercer día, los tratamientos FC2 y FC3 obtuvieron los datos mas altos de temperatura del estudio (grafica 1) .El valor de FC3 (46°C) es similar al resultado obtenido en copoazú por Nazaré *et al* (1990) y Marçal de Vasconselos (1999) y en cacao por el método de sacos por Aroyeun *et al*. (2002).

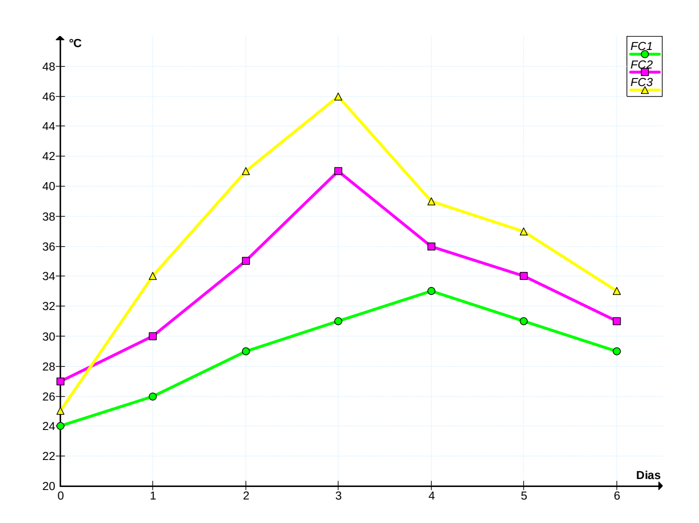
En esta temperatura se produce la muerte del embrión y a partir de ahí se desencadenan las reacciones bioquímicas para la formación de los precursores de aroma y sabor (Enríquez, 1985).

En el tratamiento FC1 la máxima temperatura fue de 33°C, por lo que no se logro la temperatura optima para un buen proceso de fermentación (tabla 5).

Temperatura (°C)			
Tiempo (días)	**FC1**	**FC2**	**FC3**
0	24	27	25
1	26	30	34
2	29	35	41
3	31	41	46
4	33	36	39
5	31	34	37
6	29	31	33

Tabla 5. Comparación de la temperatura de las 3 masas fermentantes de copoazú durante el tiempo del proceso.

En los tratamientos FC1 y FC2 La temperatura de los días siguientes de la fermentación disminuyo hasta estabilizarse con la del medio ambiente (gráfica 1)



Gráfica 1. Variación de la temperatura de las semillas de copoazú durante el tiempo de fermentación

4.3.2. pH. En los tres tratamientos el pH de los cotiledones tiene valores similares a los reportados por Marçal de Vasconselos (1999) y Hernández & León (2002).

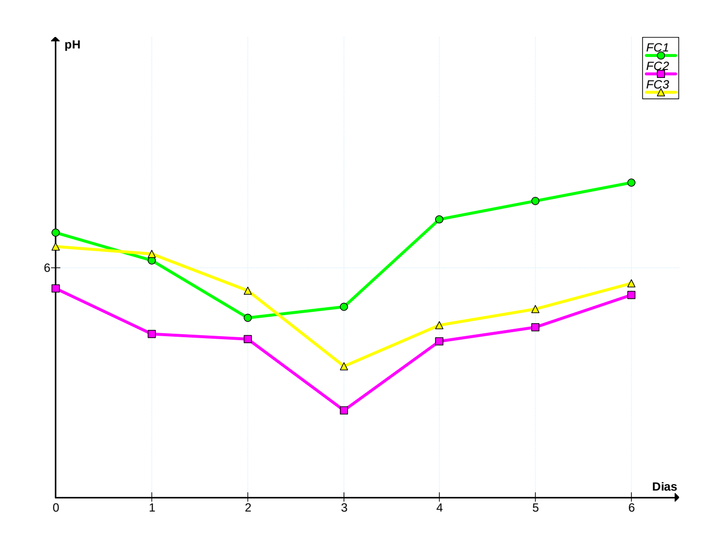
,

En el tratamiento FC1 el pH en los dos primeros días disminuyo y en los siguientes días de fermentación fue aumentando rápidamente (grafica 2).

Los dos primeros días del proceso en los otros tratamientos el pH decreció lentamente, al tercer día hubo una mayor disminución presentándose los datos más bajos de este parámetro, en FC2 pH 5,38 y en FC3 pH 5,57; en los días restantes del proceso, los valores tienden a aumentar (tabla 6). Caso contrario a lo reportado por Marçal de Vasconselos (1999) y Nazaré *et al* (1999) donde el pH más bajo (4,8) se reporta al final del proceso.

pH			
Tiempo (días)	**FC1**	**FC2**	**FC3**
0	6,15	5,91	6,09
1	6,03	5,71	6,06
2	5,78	5,69	5,9
3	5,83	5,38	5,57
4	6,21	5,68	5,75
5	6,29	5,74	5,82
6	6,37	5,88	5,93

Tabla 6. Comparación del pH de los cotiledones de las 3 masas fermentantes de copoazú durante el tiempo del proceso.

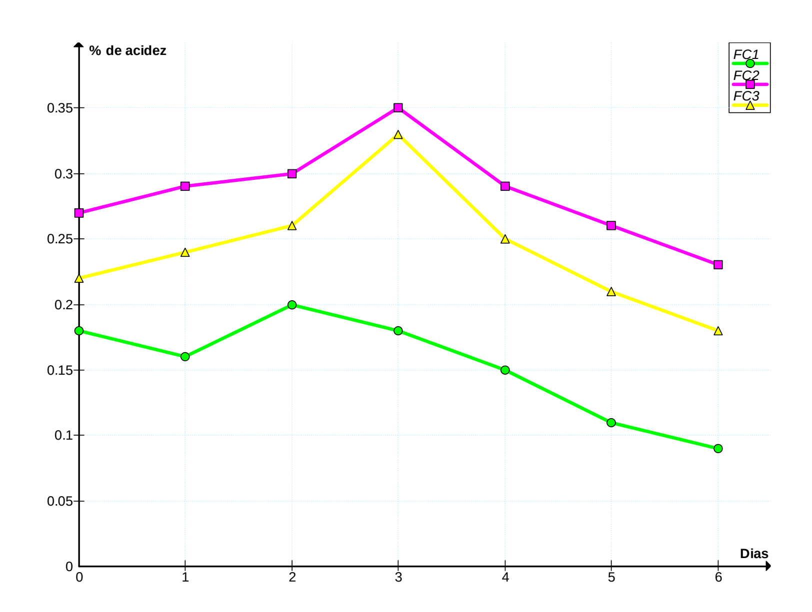


Gráfica 2.Variación pH de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación

4.3.3. Porcentaje de acidez. En el tratamiento FC1 el % de acidez es bajo comparado con el de los otros tratamientos, la tendencia es que a medida que pasa el tiempo tiende a disminuir (grafica 3). Esto se correlaciona con el aumento progresivo del pH (grafica 2).

En FC2 y FC3 el mayor valor del % de acidez (tabla 7), se presenta en el tercer día coincidiendo con el mayor valor de temperatura (grafica 1) y el menor valor de pH (figura 2); estos factores influyen en la muerte del embrión donde el acido acético penetra a los tejidos de los cotiledones produciendo este fenómeno. (Enríquez, 1985). Este comportamiento también se presenta en copoazú en los estudios realizados por Hernández & León (2002) y Marçal de Vasconselos, (1999).

Según Enríquez (1985), en cacao la muerte de las almendras producen un aumento en la permeabilidad de las paredes celulares, lo cual permite la interdifusión de los componentes del jugo celular y por ello las enzimas actúan con los polifenoles y proteínas iniciando ciertas reacciones hidrolíticas en las que los pigmentos sufren un cambio y se produce el precursor del sabor característico del chocolate.



Gráfica 3. .Variación del % acidez de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación

% acidez			
Tiempo (días)	**FC1**	**FC2**	**FC3**
0	0,18	0,27	0,22
1	0,16	0,29	0,24
2	0,2	0,3	0,26
3	0,18	0,35	0,33
4	0,15	0,29	0,25
5	0,11	0,26	0,21
6	0,09	0,23	0,18

Tabla 7. Comparación del % acidez de los cotiledones de copoazú durante el proceso de fermentación en los tres tratamientos.

4.3.4. Azucares. En el tratamiento FC1 (tabla8) se observa que el contenido de azucares reductores se reduce en el tiempo y por tanto el índice de azúcar al final del proceso es bajo (25.6%), indicando que el grano de copoazú en este tratamiento no se puede considerar de buena calidad con respecto al contenido de azúcar (grafica 6).

FC1			
Tiempo (días)	**% Az. reductores**	**% Az. totales**	**Índice de azúcar (%)**
0	0,64	1,34	47,8
1	0,55	1,32	41,7
2	0,39	1,25	31,2
3	0,37	1,46	25,3
4	0,41	1,55	26,5
5	0,36	2,24	16,1
6	0,33	1,29	25,6

Tabla 8. Comparación del porcentaje de azúcares reductores, porcentaje de azucares totales e índice de azucar de los cotiledones de la masa fermentante de copoazú en el tratamiento FC1 durante el tiempo del proceso.

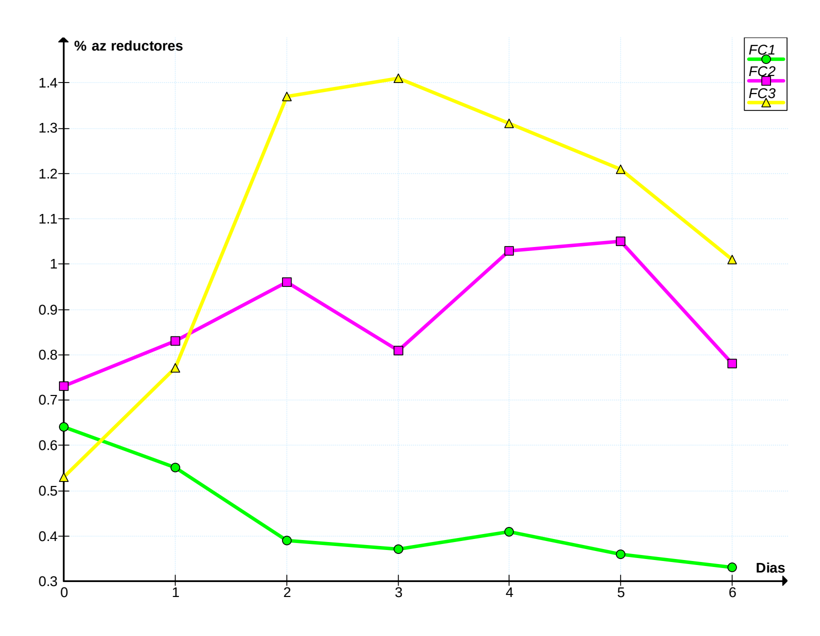
En los tratamientos FC2 y FC3 el contenido de azucares totales disminuye mientras que los azucares totales aumenta (graficas 5 y 6), este incremento se debe a .la hidrólisis de la sacarosa produciendo fructosa y glucosa por acción de la invertasa (Conteras *et al*, 2004). Los índices de azúcar de estos dos tratamientos (tabla9 y tabla 10) están por encima del 60% sobresaliendo el del tratamiento FC3, el cual al final de la fermentación es del 86.3% siendo un valor alto y por el cual se puede considerar que el grano de este tratamiento tiene buena calidad con respecto al contenido de azúcar (Peñaranda & Bolaños, 1990).

FC2			
Tiempo (días)	**% Az. reductores**	**% Az. totales**	**Índice de azúcar (%)**
0	0,73	1,47	49,7
1	0,83	1,68	49,4
2	0,96	1,42	67,6
3	0,81	1,75	46,3
4	1,03	1,8	57,2
5	1,05	1,53	68,6
6	0,78	1,09	69,2

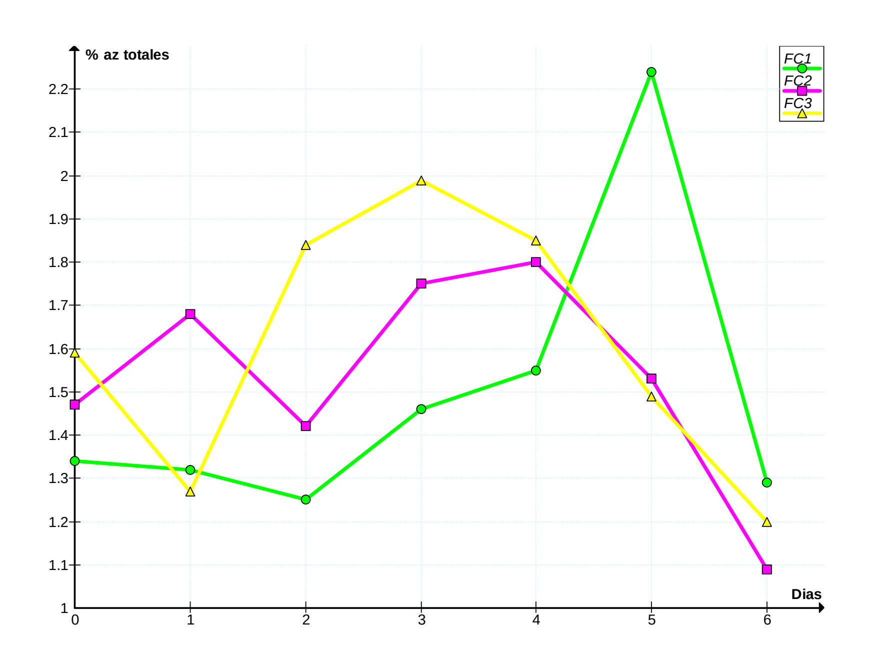
Tabla 9. Comparación del porcentaje de azúcares reductores, porcentaje de azucares totales e índice de azúcar de los cotiledones de la masa fermentante de copoazú en el tratamiento FC2 durante el tiempo del proceso.

FC3			
Tiempo (días)	**% Az. reductores**	**% Az. totales**	**Índice de azúcar (%)**
0	0,53	1,59	33,3
1	0,77	1,27	60,6
2	1,37	1,84	74,5
3	1,41	1,99	70,9
4	1,31	1,85	70,8
5	1,21	1,49	81,2
6	1,01	1,2	86,3

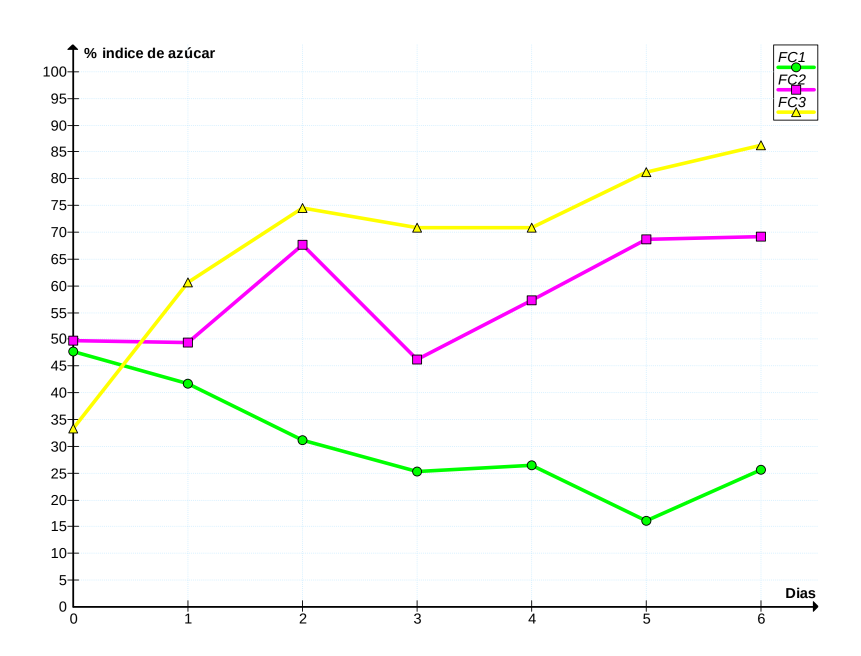
Tabla 10. Comparación del porcentaje de azúcares reductores, porcentaje de azucares totales e índice de azucar de los cotiledones de la masa fermentante de copoazú en el tratamiento FC3 durante el tiempo del proceso



Gráfica 4. Variación del porcentaje de azucares reductores de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación en los tres tratamientos evaluados



Gráfica 5. Variación del porcentaje de azucares totales de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación en los tres tratamientos evaluados



Gráfica 6.Variación del índice de azúcar de los cotiledones de copoazú durante el tiempo de fermentación en los tres tratamientos evaluados

4.3.5. Grasas. El valor inicial del % de grasa fue semejante en los tres tratamientos (tabla 11); estos valores coinciden con los reportados por Hernández & León (2002), Marçal de Vasconselos (1999) y Venturieri (1993). Los datos después de la segunda fermentación variaron significativamente con respecto al primer valor en el tratamiento FC1 donde disminuyo en un 6%, mientras que en los otros tratamientos presentaron un pequeño aumento

% de grasa			
Tiempo (días)	**FC1**	**FC2**	**FC3**
0	49,7	51,6	50,1
6	43,5	53,8	52,4

Tabla 11. % de grasa contenido en las semillas de copoazú de los tres tratamientos, antes y después de la fermentación.

4.4. CAMBIOS EN LA PIGMENTACIÓN DE LAS SEMILLAS

En el tratamiento FC1 (figura 2), los cambios en la pigmentación se empiezan a notar a partir del 3 día con pequeñas manchas pardas, en algunos casos se evidencian puntos de color rojizo, hasta el quinto día no hay cambios evidentes, el en final de la fermentación se evidencia una distribución no uniforme de los colores donde predomina el color pardo-gris con manchas rojas y en el centro de los cotiledones color blanco.

En los tratamientos FC2 y FC3 (figura 3 y figura 4), el cambio en la pigmentación también se evidencia a partir del tercer día con sectores de color pardo; el aumento de

este color se da de forma progresiva hasta el sexto día donde la almendra presenta un color pardo medio a pardo oscuro con el tegumento de color más oscuro que los cotiledones.

Los cambios de color se evidencian con la muerte del embrión, donde hay difusión de pigmentos en las células que inicialmente no las contenía ya que al penetrar el acido acético destruye la semipermeabilidad de las membranas de las células para que los pigmentos se difundan por todo el cotiledón (Enríquez, 1985).

FC1

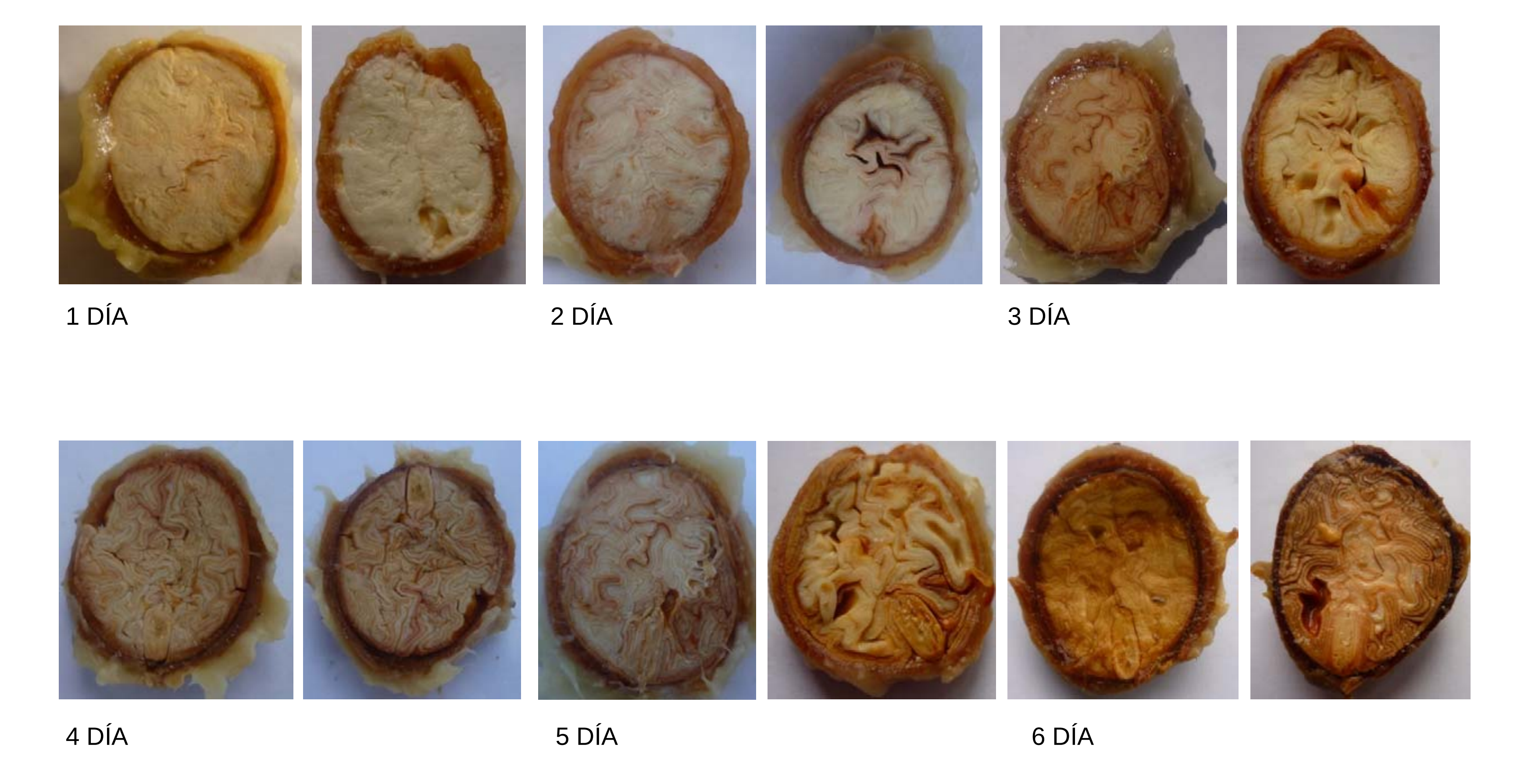


Figura 2. Cambios en la pigmentación de las semillas de copoazú en el tratamiento FC1 durante el proceso de fermentación

FC2

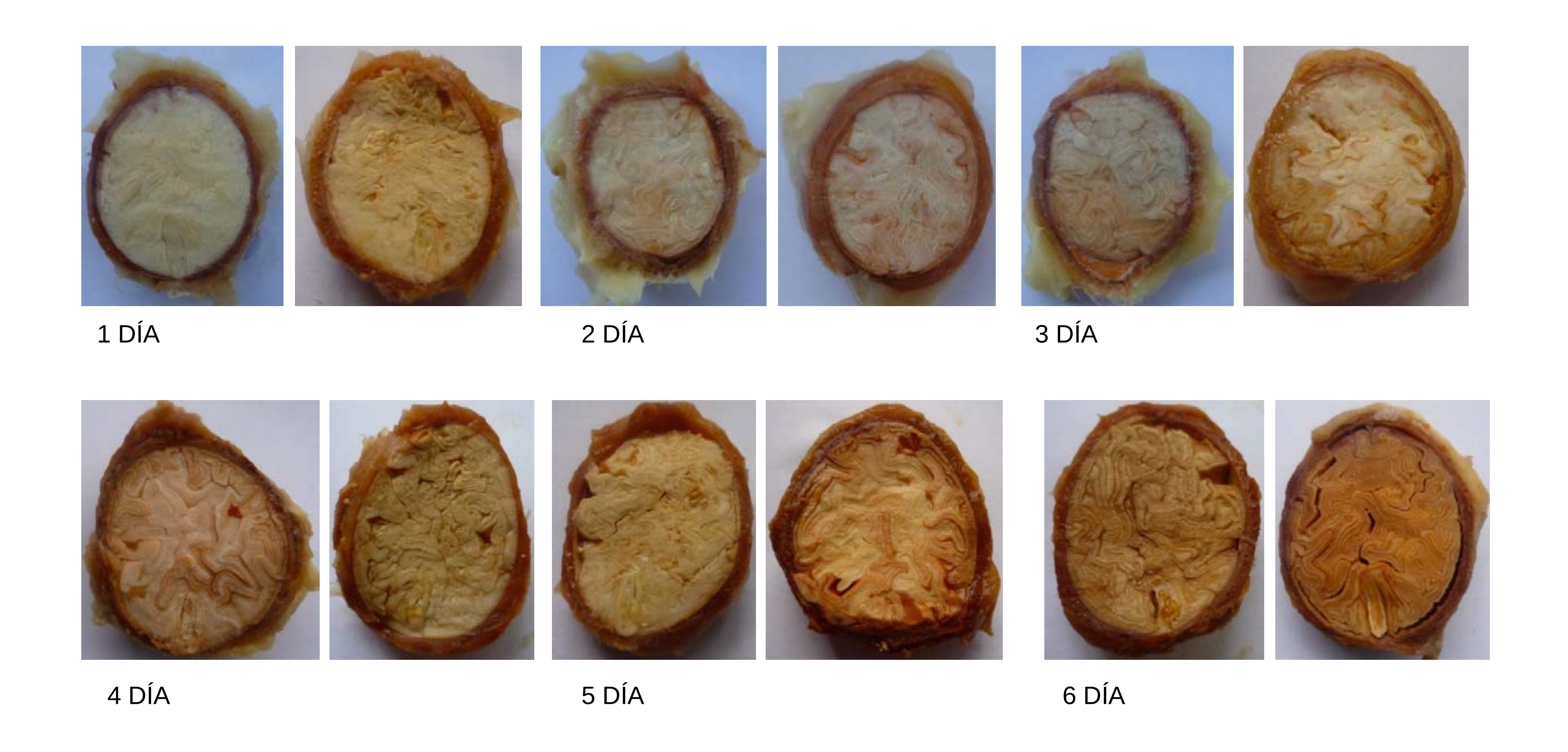


Figura 3. Cambios en la pigmentación de las semillas de copoazú en el tratamiento FC2 durante el proceso de fermentación

FC3

1 DÍA

2 DÍA

3 DÍA

4 DÍA

5 DÍA

6 DÍA

Figura 4. Cambios en la pigmentación de las semillas de copoazú en el tratamiento FC3 durante el proceso de fermentación

4.5. CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA

4.5.1. Levaduras. En la tabla 12 se observa que el tratamiento FC1 presento menor cantidad en el contenido de levaduras con respecto a los otros tratamientos, donde la mayor presencia de estos organismos se expresa en el día 1.

El tratamiento FC3 obtuvo un gran incremento de levaduras, ya que en el inicio de la fermentación se le adiciono azúcar y este actuó como sustrato, favoreciendo las condiciones para el crecimiento de estos microorganismos.

Los resultados de FC2 y FC3 coinciden con lo reportado en la literatura. Al inicio de la fermentación las levaduras proliferan convirtiendo los azucares en etanol y co_2 y además produciendo enzimas pectinoliticas. El pH inicial de la pulpa, la presencia de acido cítrico (tabla 4) y bajos niveles de oxigeno en la masa fermentante durante las primeras 24 horas, favorecen la colonización de la masa.

Se observa que en los tratamientos FC2 y FC3 después del día 1 la población de levaduras disminuye, posiblemente porque ellas metabolizan acido cítrico causando un aumento de pH de la pulpa, este pH inhibe el crecimiento de levaduras y crean un medio favorable para las bacterias lácticas

Levaduras (UFC/g)			
Tiempo (días)	**FC1**	**FC2**	**FC3**
0	3000	230000	200000
1	4800	990000	3750000
2	3500	200000	180000
3	5700	200000	200000
4	4100	3000	700
5	1000	200	300
6	300	70	20

Tabla 12. Comparación de la presencia de levaduras en la masa fermentante de las semillas de copoazú durante el proceso de fermentación en los tres tratamientos evaluados.

.

4.5.2. Lactobacilus. La cantidad de lactobacilus es menor en el tratamiento FC1 (tabla 13) posiblemente por tener menor número de remociones y por no alcanzar temperaturas óptimas (40 °C) para la presencia de estos microorganismos (García, 1995).

La fermentación FC3 presentó la mayor población de lactobacilus (299000 UFC/g) en el día 2 coincidiendo con el decline de la población de levaduras (tabla12), esto se debe al aumento del pH (tabla 6). En esta etapa la aireación de la masa se intensificó por el volteo del día anterior y la temperatura fue de 41°C (tabla 5), después de este día las

bacterias acéticas se convierten en los organismos dominantes. aumentando la temperatura de la masa, en el caso de FC2 hasta 41°C y en FC3 hasta 46°C incrementando el % de acidez.

Lactobacilus (UFC/g)			
Tiempo (días)	**FC1**	**FC2**	**FC3**
0	70	18000	44000
1	10	37000	60000
2	180	94000	299000
3	100	132000	1800
4	278	600	80
5	10	83	10
6	0	40	10

Tabla 13. Comparación de la presencia de lactobacilus en la masa fermentante de las semillas de copoazú durante el proceso de fermentación

4.5.3. Mohos. En el tratamiento FC1 (tabla 14) se presentaron poblaciones de mohos después del quinto día, esto se explica porque la temperatura no fue mayor a 33 °C (tabla 5), la humedad relativa del ambiente durante el proceso fue del 80% y la población creció después del segundo volteo donde se proporciono oxigeno. Según García (1995), las condiciones ambientales antes descritas son favorables para el crecimiento y multiplicación de estos microorganismos.

Tiempo (días)	Mohos (UFC/g)
0	0
1	0
2	10
3	10
4	10
5	3000
6	21000

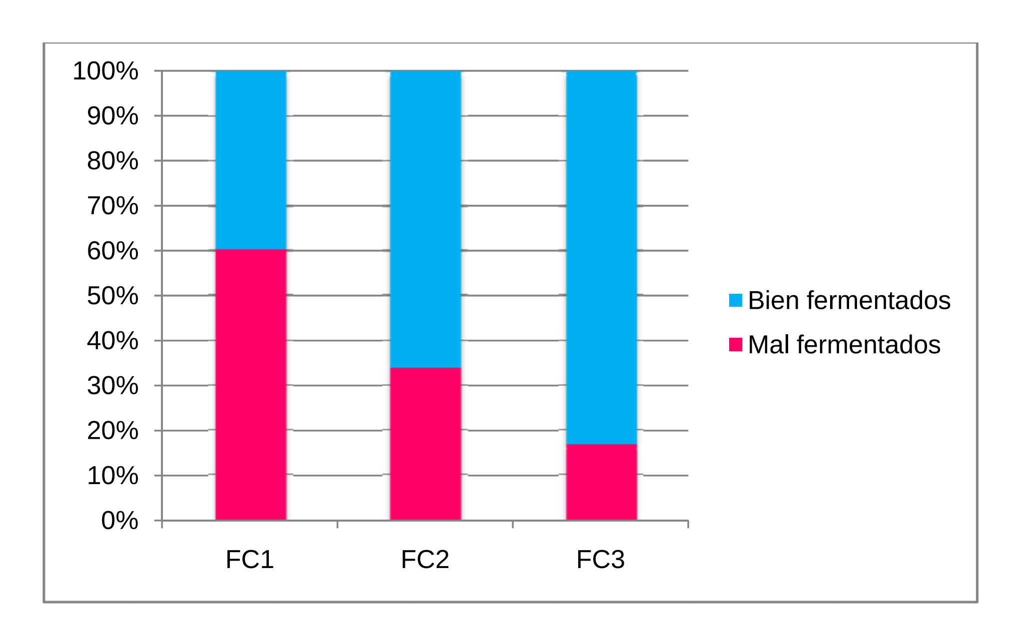
Tabla 14. Presencia de mohos en la masa de semillas del tratamiento FC1durante el proceso de fermentación.

4.6. ÍNDICE DE FERMENTACIÓN

En la grafica 6 se puede observar que el tratamiento FC1 no tuvo un buen proceso de fermentación ya que aproximadamente el 60% tuvo mala fermentación, dentro de esto se encuentran los granos mohosos que también se presentaron en la masa de semillas (tabla14).

El mejor tratamiento fue FC3 con 83,2% (tabla 15) debido a que valores cercanos a 100% indican el buen desarrollo del proceso, destacándose que no encontraron granos mohosos y germinados.

El índice de fermentación del tratamiento FC2 presentó un valor cercano al 70% (grafica 7), observandose granos mohosos y germinados (tabla 15), posiblemente porque la máxima temperatura obtenida fue del 41%.



Grafica 7. Comparación del índice de fermentación entre los tres tratamientos

	% de fermentación		
Características granos	**FC1**	**FC2**	**FC3**
Germinados	9,3	3,7	0
Mohosos	22,8	0,7	0
Insuficientemente fermentados	28,1	29,3	16,8
Bien fermentados	39,8	66,3	83,2
TOTAL	100	100	100

Tabla 15. Porcentaje de fermentación de los granos de copoazú estudiados

5. CONCLUSIONES

Se caracterizo tres tipos de fermentaciones diferentes, observando que los procesos están condicionados principalmente por la temperatura, frecuencia de remociones y presencia de microorganismos.

El tratamiento al que se le adiciono azúcar obtuvo los mejores valores en los parámetros medidos incluido el índice de fermentación.

El tipo de fermentación donde las remociones se hicieron cada 48 horas presento las temperaturas más bajas apareciendo mohos y afectando el índice de fermentación el cual fue el menor de los tres tratamientos.

La temperatura, el % de acidez y pH son parámetros que se pueden medir *in situ* para controlar y monitorear el proceso de fermentación.

La medición de la presencia de microorganismos es indicador de un buen proceso debido a que estos son generadores de sustancias y reacciones necesarias para una óptima fermentación.

El registro fotográfico del cambio de coloración de los cotiledones durante la fermentación es una herramienta útil para hacer seguimiento al proceso.

6. RECOMENDACIONES

Realizar el proceso de fermentación a grande escala y en los sitios donde se lleva a cabo el beneficio del grano.

Adaptar tipos de fermentadores del cacao, como el de tambor, al proceso de fermentación del copoazú.

Es importante estandarizar el proceso de fermentación del copoazú para establecer un registro fotografico donde se muestre el cambio progresivo de la pigmentación de los granos y así brindar a la comunidad una herramienta de fácil acceso para que la puedan comparar con su proceso de fermentación.

7. BIBLIOGRAFÍA

Aroyeun S *et al*. 2002. Efectos de los métodos de fermentación en la calidad comercial del grano de cacao. 15e Conferencia internacional sobre investigaciones del cacao. Catie. Costa Rica.

Calzavara B *et al*. 1984. Fruticultura tropical: O cupuaçuzeiro. Cultivo, beneficiamento e utilização do fruto. Brasil.

Castillo R, Olarte H. 2002. Influencia de las características del cacao en grano (*Theobroma cacao)* como materia prima sobre la calidad del chocolate de mesa. Tesis especialización en ciencia y tecnología de alimentos. Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales.

Contreras, C *et al*. 2004. .Fermentadores para cacao usados por los productores de la localidad de Cumboto, Venezuela.*Agronomía Trop.*, abr. 2004, vol.54, no.2.

EMBRAPA. **1990**. Copoazú, Producción y Ecología. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria. Centro de Pesquisa Agropecuaria do Tropico Unido-CPATU. Brasil

Enríquez G. 1985. Curso sobre el cultivo del cacao. CATIE. Costa Rica

FEDECACAO. 2004. El beneficio y características físicoquímicas del cacao (*Theobroma cacao L*.). Ed. Produmedios. Colombia.

García V. 1995. Introducción a la microbiología. EUNED. Costa Rica

Hernández C, León A. 2003. Evaluación de las etapas de fermentación y secado del proceso de beneficio de semillas de copoazú (*Theobroma grandiflorum*). Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia,

ICONTEC.2003. Norma Técnica 1252 Colombiana. Cacao en grano.

Leal F. *et al*. 2004. El Copoazú (Theobroma grandiflorum) Sterculiaceae, pariente del cacao. I Congreso Venezolano del Cacao y su Industria

Marçal de Vasconselos, M. 1999. Transformações físicas e químicas durante a fermentação de amêndoas do cupuaçu (Theobroma grandiflorum Schum). Universidade Estadual de Campinas. Brasil

Moreno L, Sánchez J. 1980. Beneficio del cacao. IICA .PROCACAO .Fundación Hondureña de Investigaciones Agrícolas. Honduras.

Nazaré, R. *et al*. 1990. Processamento das sementes de cupuaçu para a obtenção de cupulate. EMBRAPA- CPATA. Brasil.

Peñaranda L, Bolaños R. **1990**. Diseño de un reactor para la fermentación de cacao y estudio de las variables que influyen en el proceso. Tesis de grado. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Industrial de Santander.

Portillo, E *et al*. 2006. Efecto de algunos factores post-cosecha sobre la calidad sensorial del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) Revista. Facultad Agronomía. No. 23: 49-57.

Rocha Neto O.*et al*. 1999. Cupuacu. En principais podutos extrativos da Amazónia e seus coeficientes técnicos. Itituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos recursos Naturais Renováveis. Centro nacional de denvolvimento. Sustentado das populacoes Tradicionais. Brasil

Secretaria pro tempore Brasil (SPTV). 1999. Copoasu [*Theobroma grandiflorum (*Willd. Ex Spreng.) Shum.]: Cultivo y utilización, manual técnico. Tratado de cooperación amazónica. Brasil

Souza A. 1996. Recursos genéticos e melhoramento do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.Schum). En:as culturas de cupuaçu e pupunha,1. Brasil

Venturieri G. 1993. Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamento. ed., Clube do Cupu. Brasil